

最終報告書

1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウム
の細菌を用いる復帰突然変異試験

(試験番号: 99-174)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目 次

要約	1 頁
試験目的	2
材料および方法	2
1. 被験物質	2
2. 指標菌株	3
3. 指標菌株の検査	3
4. 指標菌株の保存と前培養	3
5. S9 mix	4
6. 被験物質の供試液の調製	5
7. 陰性対照および陽性対照	5
8. アミノ酸添加軟寒天培地の調製	6
9. 用量設定試験（予備試験）	6
10. 本試験	7
1) 用量設定	7
2) 実験方法	7
(1) プレインキューベーション法（直接法）	7
(2) プレインキューベーション法（代謝活性化法）	8
11. 無菌試験	8
12. 試験の有効性	8
13. 結果の判定	8
結果	9
結論および参考事項	9
参考文献	10

表：

表 1-1-1	S9 mix 非存在下における 1-メトキシカルボニル ペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異 試験結果〔用量設定試験-直接法〕	11
表 1-1-2	S9 mix 存在下における 1-メトキシカルボニル ペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異 試験結果〔用量設定試験-代謝活性化法〕	12
表 1-2	S9 mix 存在下における 1-メトキシカルボニル ペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異 試験結果〔用量設定試験：再試験-代謝活性化法〕	13
表 2-1	S9 mix 非存在下における 1-メトキシカルボニル ペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異 試験結果〔本試験 1 回目-直接法〕	14
表 2-2	S9 mix 存在下における 1-メトキシカルボニル ペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異 試験結果〔本試験 1 回目-代謝活性化法〕	17
表 3-1	S9 mix 非存在下における 1-メトキシカルボニル ペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異 試験結果〔本試験 2 回目-直接法〕	20
表 3-2	S9 mix 存在下における 1-メトキシカルボニル ペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異 試験結果〔本試験 2 回目-代謝活性化法〕	23

図：

図 1	1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの 復帰突然変異試験結果-本試験 1 回目	26
図 2	1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの 復帰突然変異試験結果-本試験 2 回目	31

要 約

1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの遺伝子突然変異誘発性の有無を調べるために、復帰突然変異試験を指標菌株として *Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, TA1537 および *Escherichia coli* WP2uvrA を用い、S9 mix 非存在（直接法）および存在（代謝活性化法）下でプレインキュベーション法により行った。

用量は、用量設定試験（予備試験）の結果、WP2uvrA では代謝活性化の有無にかかわらず、生育阻害は認められなかったため、156~5000 μg /プレートの範囲（公比2）で設定した。その他の菌株については菌の生育阻害が認められる用量を最高用量とし、直接法においては、TA100, TA1535 および TA1537 で 0.625~20 μg /プレート、TA98 で 3.13~100 μg /プレートの範囲（公比2）、また、代謝活性化法においては、TA98 および TA1535 で 6.25~200 μg /プレート、TA1537 で 31.3~1000 μg /プレート、TA100 で 62.5~2000 μg /プレートの範囲（公比2）で設定した。

試験は2回実施した。その結果、全ての菌株において代謝活性化の有無にかかわらず、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。菌の生育阻害については直接法の場合、TA100, TA1535 および TA1537 では 20 μg /プレート、TA98 では 100 μg /プレートで認められ、WP2uvrA では生育阻害は認められなかった。また、代謝活性化法の場合は、TA98 および TA1535 では 200 μg /プレート、TA1537 では 1000 μg /プレート、TA100 では 2000 μg /プレートで認められ、WP2uvrA では生育阻害は認められなかった。

以上の成績から、本実験条件下では、1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの細菌に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

試験目的

この試験は、1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの細菌に対する遺伝子突然変異誘発性の有無を明らかにするために実施した。

材料および方法^{1, 2)}

1. 被験物質

名称(略号)： 1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウム (HASM)

別名：ナトリウム α -スルホパルミチン酸メチル

CAS番号： 4016-24-4

ロット番号：

純度： 97.0 % (平成12年2月3日分析)

不純物； α -スルホパルミチン酸二ナトリウム：0.4 %，メチル硫酸ナトリウム：0.3 %，パルミチン酸メチル：0.1 %，水：2.0 %

入手先(製造元)：

入手日： 平成12年3月6日

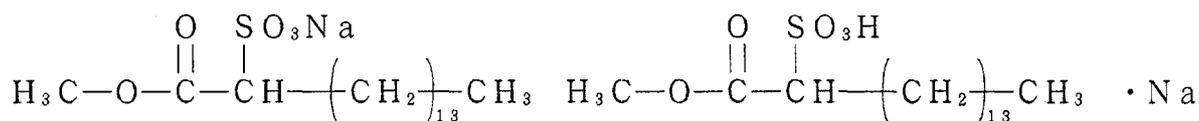
入手量： 250 g

物性等：

化学名 Hexadecanoic acid, 2-sulfo-, 1-methylester, sodium salt

構造式

① または ②



分子式 ①C₁₇H₃₃O₅SNa または ②C₁₇H₃₄O₅SNa

分子量 ①372.49 または ②373.49

性状(常温) 白色粉体

溶解性 水：0.2% (20℃), 10% (50~60℃)；ジメチルスルホキシド (DMSO)：
5% (20℃)；アセトン：0.01% (20℃)

安定性：安定〔実験終了後、残余被験物質を において分析（平成12年10月16日）した結果、純度は 1回目測定：96.9%，2回目測定：97.0%で実験期間中被験物質は安定であったことを確認した。〕

保管条件：冷暗所（4℃），密栓

2. 指標菌株

指標菌株は、国立公衆衛生院より入手（平成6年12月19日）した以下の5種類を用いた。

（塩基対置換型）

Salmonella typhimurium TA100, TA1535

Escherichia coli WP2uvrA

（フレームシフト型）

Salmonella typhimurium TA98, TA1537

3. 指標菌株の検査

次に示す指標菌株の遺伝的特性およびその他の諸性質に関する項目について検査し、本来の特性を有することを確認した。

- 1) *S. typhimurium* におけるヒスチジンおよびビオチン要求性
E. coli におけるトリプトファン要求性
- 2) 紫外線感受性 (*uvrA*, *uvrB*)
- 3) *S. typhimurium* におけるクリスタルバイオレット感受性 (*rfa*)
- 4) *S. typhimurium* TA100 および TA98 におけるアンピシリン耐性 (*pKM101*)
- 5) 自然突然変異体数
- 6) 陽性対照物質に対する反応性

4. 指標菌株の保存と前培養

菌液 0.8 mL にジメチルスルホキシド (DMSO, 和光純薬工業株式会社, ロット番号

ACH7185, 99.9%) を 0.07 mL の割合で加えて -80°C 以下で保存した。この保存菌株の 25 μ L をニュートリエントブロス (Bacto nutrient broth dehydrated, Difco Laboratories, ロット番号 44077JK) 液体培地 15 mL に接種し, 37°C で 12 時間振盪培養した。培養後の懸濁菌液については, 分光光度計で吸光度 (OD_{660nm}) を測定し, 濁度と生菌数の換算式より 1 mL あたり 1×10^9 以上の生菌数が得られていることを確認した。

生菌数 ($\times 10^9$ /mL)

指標菌株	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
用量設定試験	1.62	1.72	1.47	1.56	1.21
本試験 (1回目)	1.46	1.70	1.38	1.44	1.21
本試験 (2回目)	1.50	1.67	1.47	1.33	1.21

5. S9 mix

代謝活性化法に用いた S9 mix は, ラット肝臓のホモジネートの薬物代謝酵素分画 (S9) にコファクターを加えて凍結された市販品をキッコーマン株式会社から購入し, 使用した (用量設定試験: ロット番号 FSM-422・2000年3月10日製造・2000年3月28日購入, ロット番号 FSM-424・2000年4月14日製造・2000年5月16日購入; 本試験: ロット番号 FSM-424)。凍結 S9 mix は -80°C 以下で保存し, 使用時に冷水中で解凍して用いた。使用した S9 の製造法および S9 mix の 1 mL 当たりの組成は, 次のとおりである。

S9 製造法

A. 使用動物

- a) 種・系統: Sprague-Dawley系ラット (日本エスエルシー株式会社)
- b) 性・週齢: 雄・7週齢
- c) 体重: 204~236g (FSM-422), 203~233g (FSM-424)

B. 誘導法

- a) 誘導物質: phenobarbital (PB), 5,6-benzoflavone (BF)
- b) 投与経路: 腹腔内投与
- c) 投与方法 (投与開始日起算):
 - 1日目-PB 30 mg/kg, 2, 3, 4日目-PB 60 mg/kg
 - 3日目-BF 80 mg/kg

C. 調製法

最終投与の翌日に肝臓ホモジネートを遠心分離 ($9,000 \times g$) し, その上清を採取

S9 mix 1 mL 当たりの組成

MgCl ₂	8	μmol
KCl	33	μmol
G-6-P	5	μmol
NADH	4	μmol
NADPH	4	μmol
リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.4)	100	μmol
S9	0.1	mL

6. 被験物質の供試液の調製

予備的検討の結果，被験物質は水に不溶であり，DMSO には可溶であったため，溶媒には DMSO（和光純薬工業株式会社，ロット番号 KSH7608，99.9%）を用いた。被験物質の供試液の調製は，実験の直前に行った。溶媒を用いて最高用量の供試液（原液）を調製し，ついで，この原液を溶媒で順次希釈して所定の用量の被験物質供試液を調製した。

7. 陰性対照および陽性対照

陰性対照（溶媒対照）には，被験物質の溶媒である DMSO を用いた。陽性対照としては，以下の既知変異原性物質を用いた。

指標菌株	直接法 (μg/プレート)	代謝活性化法 (μg/プレート)
TA100	AF-2 (0.01)	2-AA (1)
TA1535	SA (0.5)	2-AA (2)
WP2uvrA	AF-2 (0.04)	2-AA (10)
TA98	AF-2 (0.1)	2-AA (1)
TA1537	9-AA (80)	2-AA (2)

AF-2： 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド（和光純薬工業株式会社，98%，ロット番号 PTQ1296）

2-AA： 2-アミノアントラセン（和光純薬工業株式会社，>90%，ロット番号 KCM 2259）

SA： アジ化ナトリウム（和光純薬工業株式会社，90%，ロット番号 KCG5232）

9-AA： 9-アミノアクリジン（Aldrich Chemical Company，98%，ロット番号 07721MZ）

AF-2 および 2-AA は DMSO (和光純薬工業株式会社, ロット番号 TPE7144, 99.9%) に, SA および 9-AA は蒸留水 (株式会社大塚製薬工場, ロット番号 K9G84) に溶解した。

8. アミノ酸添加軟寒天培地の調製

0.6 %寒天粉末 (Difco laboratories, ロット番号 42101JG) および0.5 %塩化ナトリウム (和光純薬工業株式会社, ロット番号 7001)の組成の軟寒天を調製した。溶解した軟寒天に, *S. typhimurium*用には 0.5 mM D-ビオチン (Sigma Chemical Company, ロット番号 126H0568)および 0.5 mM L-ヒスチジン (和光純薬工業株式会社, ロット番号 DLJ5479)水溶液, *E. coli* 用には 0.5 mM L-トリプトファン (和光純薬工業株式会社, ロット番号 KCK3898) 水溶液を 1/10 容加え, アミノ酸添加軟寒天培地とした。

9. 用量設定試験 (予備試験)

本試験における被験物質の適切な用量を把握するために, 0.1~5000 μg /プレートの範囲で用量を設定して, 本試験と同様の実験方法で試験を行った。試験は各用量1枚のプレートで行った。

その結果 (表 1-1-1, 1-1-2), WP2uvrA では代謝活性化の有無にかかわらず, 菌の生育阻害は認められなかった。その他の菌株では, 直接法の場合は, TA1535 では 10 μg /プレート以上, TA100 では 20 μg /プレート以上, TA1537 および TA98 では 50 μg /プレート以上で生育阻害が認められた。なお, TA1537 においては, この結果を基に本試験を2回行ったところ, 1回目は 3.13 μg /プレート以上, 2回目は 12.5 μg /プレート以上の用量で生育阻害が認められ, 予備試験の結果を含めて生育阻害の認められる用量にバラツキがみられ, また, 生育阻害の認められない用量のデータが十分に得られなかった。そこで, 直接法における TA1537 については, 再度, 用量設定試験を行った。その結果 (表 1-2), 20 μg /プレートで菌の生育阻害が認められた。代謝活性化法の場合は, TA98 および TA1535 では 200 μg /プレート以上, TA1537 では 500 μg /プレート以上, TA100 では 2000 μg /プレート以上で生育阻害が認められた。

10. 本試験

1) 用量設定

用量設定試験の結果から、被験物質の用量は、直接法の場合、TA100, TA1535 および TA1537 では 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 および 20 μg /プレート (公比 2), TA98 では 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50 および 100 μg /プレート (公比 2), WP2uvrA では 156, 313, 625, 1250, 2500 および 5000 μg /プレート (公比 2) のそれぞれ 6 用量とした。なお、TA1537 については、用量設定試験：再試験の結果を基に用量を設定した。代謝活性化法の場合は、TA98 および TA1535 では 6.25, 12.5, 25, 50, 100 および 200 μg /プレート (公比 2), TA1537 では 31.3, 62.5, 125, 250, 500 および 1000 μg /プレート (公比 2), TA100 では 62.5, 125, 250, 500, 1000 および 2000 μg /プレート (公比 2), WP2uvrA では 156, 313, 625, 1250, 2500 および 5000 μg /プレート (公比 2) のそれぞれ 6 用量とした。

2) 実験方法

(1) プレインキュベーション法 (直接法)

滅菌小試験管に前培養した懸濁菌液 0.1 mL, 被験物質の供試液 0.1 mL および 0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.4) 0.5 mL (和光純薬工業株式会社, リン酸水素二ナトリウム・十二水塩: ロット番号 CAH3075, リン酸二水素ナトリウム・二水塩: ロット番号 CAJ2723) を分注し, 37°C で 20 分間振盪培養後, 45°C に保温したアミノ酸添加軟寒天培地 2 mL を加え, 最少グルコース寒天平板培地上に広げた。最少グルコース寒天平板培地 (テスメディア AN 培地, オリエンタル酵母工業株式会社, 用量設定試験: ロット番号 ANI110BP・2000年2月22日製造・2000年3月14日購入, ロット番号 ANI170CP・2000年3月16日製造・2000年4月25日購入, ロット番号 ANI250DP・2000年4月13日製造・2000年7月4日購入; 本試験: ロット番号 ANI110BP, ロット番号 ANI250DP, ロット番号 ANI330EP・2000年5月25日製造・2000年8月28日購入) は, Vogel-Bonner E 培地 (0.2%クエン酸・一水塩, 1%リン酸二カリウム, 0.192%リン酸一アンモニウム, 0.066%水酸化ナトリウム, 0.02%硫酸マグネシウム・七水塩) に寒天粉末を 1.5% およびグルコースを 2% となるように加え, 30 mL ずつ分注したものである。37°C で 48 時間培養後, 復帰変異コロニー計数し, 同時に指標菌株の生育阻害の有無を実体顕微鏡を用いて観察した。陰

性対照および陽性対照群においては、上記の被験物質の供試液 0.1 mL にかわり、溶媒 (DMSO) および陽性対照物質溶液 0.1 mL を用いて同様に実施した。試験は各用量 3 枚のプレートで行った。

(2) プレインキュベーション法 (代謝活性化法)

滅菌小試験管に前培養した懸濁菌液 0.1 mL, 被験物質の供試液 0.1 mL および S9 mix 0.5 mL を分注し, 37°C で 20 時間振盪培養後, 45°C に保温したアミノ酸添加軟寒天培地 2 mL を加え, 最少グルコース寒天平板培地上に広げた。37°C で 48 時間培養後, 復帰変異コロニーを計数し, 同時に指標菌株の生育阻害の有無を実体顕微鏡を用いて観察した。陰性対照および陽性対照群においては, 上記の被験物質の供試液 0.1 mL にかわり, 溶媒 (DMSO) および陽性対照物質溶液 0.1 mL を用いて同様に実施した。試験は各用量 3 枚のプレートで行った。

11. 無菌試験

用量設定試験および本試験において, 用いた溶媒, S9 mix および最高用量の被験物質の供試液について, それぞれ 0.1 mL に 0.6% 軟寒天 2 mL を加え, 最少グルコース寒天平板培地に重層後, 37°C で 48 時間培養し, 菌の生育の有無を調べた。最少グルコース寒天平板培地は, それぞれ 3 枚ずつ使用した。

12. 試験の有効性

以下の 3 基準を満たす場合に, 試験は適切な条件下で実施され, 試験は有効と判定した。

- 1) 試験に用いた菌液, 溶媒, 被験物質の供試液および S9 mix に雑菌の混入がない。
- 2) 各指標菌株の陰性対照における復帰変異コロニー数が, 当研究所における背景データの範囲内の値を示す (自然復帰変異体数)。
- 3) 各指標菌株の陽性対照における復帰変異コロニー数が, 当研究所の背景データの範囲あるいはその近くの値を示す。

13. 結果の判定

結果の判定は, 各用量におけるプレートでの復帰変異コロニー数の平均値を基に, 原

則的に以下の3基準を満たす場合を陽性とした。

- 1) 被験物質処理群において陰性対照値の2倍以上の復帰変異コロニー数が出現する。
- 2) 被験物質用量の増加とともに復帰変異コロニー数が増加する(用量依存性)。
- 3) 2回にわたる本試験の結果から、復帰変異コロニー数の増加に再現性が認められる。

但し、明確な用量依存性が認められない場合においても、陽性値を示す試験結果に再現性が認められれば陽性と判定した。

結 果

試験を2回実施した結果(表 2-1, 2-2, 3-1, 3-2 および図 1-1, 1-2, 1-3, 2-1, 2-2, 2-3), 直接法および代謝活性化法のいずれの場合も, 供試したすべての菌株において復帰変異コロニー数は, 陰性対照値の2倍を越えることはなかった。菌の生育阻害については, 直接法の場合, TA100, TA1535 および TA1537 では $20 \mu\text{g}/\text{プレート}$, TA98 では $100 \mu\text{g}/\text{プレート}$ で認められ, WP2uvrA では生育阻害は認められなかった。また, 代謝活性化法の場合は, TA98 および TA1535 では $200 \mu\text{g}/\text{プレート}$, TA1537 では $1000 \mu\text{g}/\text{プレート}$, TA100 では $2000 \mu\text{g}/\text{プレート}$ で認められ, WP2uvrA では生育阻害は認められなかった。

なお, $200 \mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上の用量で培養終了時, 最少グルコース寒天平板培地上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

陰性対照群では, 背景データ(添付資料)の範囲内の復帰変異コロニー数が認められ, 陽性対照群においては, それぞれ背景データ(添付資料)の範囲内もしくはその近くの陽性を示す復帰変異コロニー数の増加が認められた。また, 試験に用いた菌液, 溶媒, 被験物質の供試液および S9 mix などには, 雑菌の混入は認められなかった。

結論および参考事項

1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムは, アルファスルホ脂肪酸

エステル塩 (α -SF) に属するアニオン系界面活性剤である。本物質について変異原性に関する公表文献は見当たらないが、入手先の社内資料では *Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験並びに CHL/IU 細胞を用いた染色体異常試験でいずれも陰性とされている。本物質以外のアニオン系界面活性剤には、アルキルベンゼンスルホン酸塩、ポリオキシエチレンアルキルエーテル硫酸塩、 α -オレフィンスルホン酸塩、アルキル硫酸エステル塩、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、脂肪酸塩などがある。これらについては、広範な文献をレビューした単行本「洗剤の毒性とその評価」⁴⁾ で安全性が評価されており、変異原性に関してはいずれも陰性の結果が報告されている。

今回、1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムについて遺伝子突然変異誘発性の有無を調べるため、細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した。その結果、代謝活性化の有無にかかわらず、すべての指標菌株で復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

試験の有効性については、2回にわたる本試験ともに有効であることが確認された。

したがって、本実験条件下では、1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

参考文献

- 1) Maron, D.M. and Ames, B.N. (1983). Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research*, **113**, 173-215.
- 2) Green, M.H. (1984). "Handbook of Mutagenicity Test Procedures" 1, Vol. 3, eds. by Kilbey, B.J., Legator, M., Nichols, W. and Ramel, C., Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, pp. 161-187.
- 3) 厚生省環境衛生局食品化学課編集「洗剤の毒性とその評価」, 社団法人日本食品衛生協会, 1983.

表 1-1-1 S9 mix 非存在下における1-メキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔用量設定試験－直接法〕

用 量 〔 μ g/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
	TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
陰性対照〔DMSO〕	103	9	19	22	10
0.2	104	8	16	21	10
0.5	102	10	17	27	7
1	94	9	21	23	8
2	98	6	13	30	8
5	95	9	14	24	8
10	92	3*	23	19	6
20	98*	3*	11	19	12
50	64*	3*	20	24*	12*
100	45*	0*	13	8**	5*
200	76**	1*	17#	1**	4**
500	88**	2**	10#	17**	9**
1000	87**	1**	16#	20**	8**
2000	76**	3**	18#	16**	13**
5000	88**	1**	18#	11**	6**
陽性対照	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9-AA
μ g/プレート	0.01	0.5	0.04	0.1	80
復帰変異コロニー数 /プレート	789	329	909	326	265

DMSO: ジメチルスルホキシド

(): 平均値±標準偏差

* : 菌の生育阻害が認められた。

: プレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

SA : アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン

表 1-1-2 S9 mix 存在下における1-メキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔用量設定試験－代謝活性化法〕

用 量 〔 μ g/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
	TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
陰性対照〔DMSO〕	95	5	26	32	16
0.2	93	9	25	27	13
0.5	111	4	24	29	17
1	84	7	25	35	11
2	109	10	26	36	17
5	92	11	22	25	15
10	120	8	23	27	16
20	106	11	17	27	14
50	91	7	21	37	12
100	85	6	28	21	14
200	106 #	0 *	21	17 *	9 #
500	97 #	0 **	20 #	21 **	14 **
1000	94 #	5 **	31 #	30 **	6 **
2000	105 **	3 **	25 #	18 **	11 **
5000	100 **	2 **	19 #	17 **	10 **
陽性対照	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
μ g/プレート	1	2	10	1	2
復帰変異コロニー数 /プレート	440	92	717	337	71

DMSO: ジメチルスルホキシド

(): 平均値±標準偏差

* : 菌の生育阻害が認められた。

: プレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

2-AA: 2-アミノアントラセン

表 1-2 S9 mix 非存在下における1-メキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔用量設定試験:再試験—直接法〕

用 量 〔 μ g/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート
	フレームシフト型 TA1537
陰性対照〔DMSO〕	9
0.1	10
0.2	7
0.5	8
1	6
2	13
5	9
10	15
20	4*
陽性対照	9-AA
μ g/プレート	80
復帰変異コロニー数 /プレート	374

DMSO: ジメチルスルホキシド

(): 平均値±標準偏差

* : 菌の生育阻害が認められた。

9-AA: 9-アミノアクリジン

表 2-1-1 S9 mix 非存在下における1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験1回目-直接法〕

用 量 〔 μ g/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート		
	塩基対置換型		フレームシフト型
	TA100	TA1535	TA1537
陰性対照 [DMSO]	112	13	9
	93	18	12
	94	10	9
	(100 \pm 11)	(14 \pm 4)	(10 \pm 2)
0.625	87	19	9
	117	15	11
	111	14	10
	(105 \pm 16)	(16 \pm 3)	(10 \pm 1)
1.25	117	14	14
	114	15	9
	100	10	8
	(110 \pm 9)	(13 \pm 3)	(10 \pm 3)
2.5	116	12	8
	111	11	14
	133	15	16
	(120 \pm 12)	(13 \pm 2)	(13 \pm 4)
5	112	17	13
	113	15	14
	104	16	6
	(110 \pm 5)	(16 \pm 1)	(11 \pm 4)
10	97	11	11
	88	9	13
	92	13	10
	(92 \pm 5)	(11 \pm 2)	(11 \pm 2)
20	81 *	6 *	8 *
	94 *	10 *	10 *
	94 *	9 *	11 *
	(90 \pm 8)	(8 \pm 2)	(10 \pm 2)
陽性対照	AF-2	SA	9-AA
μ g/プレート	0.01	0.5	80
復帰変異	733	359	320
コロニー数	819	374	353
/プレート	705	353	210
	(752 \pm 59)	(362 \pm 11)	(294 \pm 75)

DMSO: ジメチルスルホキシド

(): 平均値 \pm 標準偏差

* : 菌の生育阻害が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

SA : アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン

表 2-1-2 S9 mix 非存在下における1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験1回目－直接法〕

用 量 〔 μ g/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート
	塩基対置換型 WP2 $uvrA$
陰性対照 〔DMSO〕	22
	20
	21
	(21 \pm 1)
156	17
	6
	16
	(13 \pm 6)
313 #	9
	11
	12
	(11 \pm 2)
625 #	16
	21
	12
	(16 \pm 5)
1250 #	15
	14
	21
	(17 \pm 4)
2500 #	16
	10
	10
	(12 \pm 3)
5000 #	6
	8
	10
	(8 \pm 2)
陽性対照	AF-2
μ g/プレート	0.04
復帰変異	624
コロニー数	696
/プレート	678
	(666 \pm 37)

DMSO: ジメチルスルホキシド

(): 平均値 \pm 標準偏差

: プレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

表 2-1-3 S9 mix 非存在下における1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果[本試験1回目-直接法]

用 量 [μ g/プレート]	復帰変異コロニー数/プレート	
	塩基対置換型	
	TA98	
陰性対照 [DMSO]	28	
	25	
	27	
	(27 \pm 2)	
3 .13	35	
	31	
	37	
	(34 \pm 3)	
6 .25	40	
	26	
	41	
	(36 \pm 8)	
12 .5	27	
	36	
	41	
	(35 \pm 7)	
25	37	
	29	
	27	
	(31 \pm 5)	
50	22	
	27	
	22	
	(24 \pm 3)	
100	9 *	
	13 *	
	14 *	
	(12 \pm 3)	
陽性対照	AF-2	
μ g/プレート	0.1	
復帰変異	402	
コロニー数	392	
/プレート	398	
	(397 \pm 5)	

DMSO: ジメチルスルホキシド

(): 平均値 \pm 標準偏差

* : 菌の生育阻害が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

表 2-2-1 S9 mix 存在下における1-メキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果[本試験1回目-代謝活性化法]

用 量 〔μg/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート	
	塩基対置換型	フレームシフト型
	TA100	TA1537
陰性対照 〔DMSO〕	121	17
	112	16
	113	14
	(115 ± 5)	(16 ± 2)
31 .3	--	14
	--	13
	--	6
		(11 ± 4)
62 .5	112	15
	129	15
	113	15
	(118 ± 10)	(15 ± 0)
125	124	19
	106	13
	97	15
	(109 ± 14)	(16 ± 3)
250 #	114	13
	104	6
	108	9
	(109 ± 5)	(9 ± 4)
500 #	104	13
	111	19
	105	12
	(107 ± 4)	(15 ± 4)
1000 #	107	11*
	93	5*
	89	10*
	(96 ± 9)	(9 ± 3)
2000 #	88*	--
	99*	--
	87*	--
	(91 ± 7)	
陽性対照	2- AA	2- AA
μg/プレート	1	2
復帰変異	413	101
コロニー数	359	93
/プレート	405	94
	(392 ± 29)	(96 ± 4)

DMSO: ジメチルスルホキシド

(): 平均値±標準偏差

-- : 試験せず

* : 菌の生育阻害が認められた。

: プレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

2-AA: 2-アミノアントラセン

表 2-2-2 S9 mix 存在下における1-メキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験1回目-代謝活性化法〕

用 量 〔 μ g/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート	
	塩基対置換型	フレームシフト型
	TA1535	TA98
陰性対照 〔DMSO〕	9	36
	16	28
	15	23
	(13 \pm 4)	(29 \pm 7)
6.25	16	24
	20	24
	17	24
	(18 \pm 2)	(24 \pm 0)
12.5	21	28
	13	24
	19	21
	(18 \pm 4)	(24 \pm 4)
25	13	32
	12	32
	15	36
	(13 \pm 2)	(33 \pm 2)
50	17	30
	11	33
	13	37
	(14 \pm 3)	(33 \pm 4)
100	17	36
	16	30
	14	28
	(16 \pm 2)	(31 \pm 4)
200 #	12 *	27 *
	7 *	26 *
	12 *	24 *
	(10 \pm 3)	(26 \pm 2)
陽性対照	2- AA	2- AA
μ g/プレート	2	1
復帰変異	135	247
コロニー数	124	304
/プレート	130	314
	(130 \pm 6)	(288 \pm 36)

DMSO: ジメチルスルホキシド

(): 平均値 \pm 標準偏差

* : 菌の生育阻害が認められた。

: プレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

2-AA: 2-アミノアントラセン

表 2-2-3 S9 mix 存在下における1-メキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験1回目-代謝活性化法〕

用 量 〔 μ g/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート
	塩基対置換型 WP2 $uvrA$
陰性対照 〔DMSO〕	25
	18
	25
	(23 \pm 4)
156	17
	17
	21
	(18 \pm 2)
313 #	13
	21
	23
	(19 \pm 5)
625 #	21
	24
	24
	(23 \pm 2)
1250 #	24
	20
	16
	(20 \pm 4)
2500 #	14
	15
	16
	(15 \pm 1)
5000 #	9
	15
	16
	(13 \pm 4)
陽性対照	2-AA
μ g/プレート	10
復帰変異	410
コロニー数	485
/プレート	477
	(457 \pm 41)

DMSO: ジメチルスルホキシド

(): 平均値 \pm 標準偏差

: プレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

2-AA: 2-アミノアントラセン

表 3-1-1 S9 mix 非存在下における1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験2回目-直接法〕

用 量 〔 μ g/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート		
	塩基対置換型		フレームシフト型
	TA100	TA1535	TA1537
陰性対照 〔DMSO〕	118	9	8
	94	9	14
	113	4	11
	(108 \pm 13)	(7 \pm 3)	(11 \pm 3)
0.625	101	7	8
	120	9	12
	117	10	9
	(113 \pm 10)	(9 \pm 2)	(10 \pm 2)
1.25	104	9	9
	109	12	14
	127	13	10
	(113 \pm 12)	(11 \pm 2)	(11 \pm 3)
2.5	103	7	14
	97	8	11
	111	5	11
	(104 \pm 7)	(7 \pm 2)	(12 \pm 2)
5	93	10	10
	107	8	9
	96	8	10
	(99 \pm 7)	(9 \pm 1)	(10 \pm 1)
10	92	10	7
	89	4	12
	108	9	11
	(96 \pm 10)	(8 \pm 3)	(10 \pm 3)
20	88*	6*	4*
	97*	9*	10*
	95*	7*	9*
	(93 \pm 5)	(7 \pm 2)	(8 \pm 3)
陽性対照	AF-2	SA	9-AA
μ g/プレート	0.01	0.5	80
復帰変異	841	345	378
コロニー数	855	386	289
/プレート	760	377	305
	(819 \pm 51)	(369 \pm 22)	(324 \pm 47)

DMSO: ジメチルスルホキシド

(): 平均値 \pm 標準偏差

* : 菌の生育阻害が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

SA : アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン

表 3-1-2 S9 mix 非存在下における1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験2回目－直接法〕

用 量 〔 μ g/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート
	塩基対置換型 WP2 $uvrA$
陰性対照 〔DMSO〕	18
	13
	14
	(15 \pm 3)
156	21
	19
	16
	(19 \pm 3)
313 #	11
	17
	15
	(14 \pm 3)
625 #	17
	19
	7
	(14 \pm 6)
1250 #	12
	13
	13
	(13 \pm 1)
2500 #	20
	18
	11
	(16 \pm 5)
5000 #	10
	16
	9
	(12 \pm 4)
陽性対照	AF-2
μ g/プレート	0.04
復帰変異	746
コロニー数	798
/プレート	826
	(790 \pm 41)

DMSO: ジメチルスルホキシド

(): 平均値 \pm 標準偏差

: プレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

表 3-1-3 S9 mix 非存在下における1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験2回目-直接法〕

用 量 〔 μ g/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート	
	塩基対置換型	
	TA98	
陰性対照 〔DMSO〕	22	
	17	
	23	
	(21 \pm 3)	
3 .13	34	
	19	
	23	
	(25 \pm 8)	
6 .25	25	
	16	
	14	
	(18 \pm 6)	
12 .5	21	
	23	
	17	
	(20 \pm 3)	
25	24	
	26	
	17	
	(22 \pm 5)	
50	14	
	14	
	19	
	(16 \pm 3)	
100	10 [*]	
	6 [*]	
	15 [*]	
	(10 \pm 5)	
陽性対照	AF-2	
μ g/プレート	0.1	
復帰変異	457	
コロニー数	479	
/プレート	485	
	(474 \pm 15)	

DMSO: ジメチルスルホキシド

(): 平均値 \pm 標準偏差

* : 菌の生育阻害が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

表 3-2-1 S9 mix 存在下における1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験2回目－代謝活性化法〕

用 量 〔 μ g/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート	
	塩基対置換型	フレームシフト型
	TA100	TA1537
陰性対照 〔DMSO〕	88	17
	114	16
	97	13
	(100 \pm 13)	(15 \pm 2)
31.3	--	16
	--	13
	--	16
		(15 \pm 2)
62.5	108	18
	92	20
	105	23
	(102 \pm 9)	(20 \pm 3)
125	109	16
	98	14
	108	14
	(105 \pm 6)	(15 \pm 1)
250 #	74	16
	65	15
	71	13
	(70 \pm 5)	(15 \pm 2)
500 #	99	13
	77	14
	93	15
	(90 \pm 11)	(14 \pm 1)
1000 #	84	14 *
	101	13 *
	90	13 *
	(92 \pm 9)	(13 \pm 1)
2000 #	84 *	--
	103 *	--
	84 *	--
	(90 \pm 11)	
陽性対照	2-AA	2-AA
μ g/プレート	1	2
復帰変異	348	99
コロニー数	419	83
/プレート	345	83
	(371 \pm 42)	(88 \pm 9)

DMSO: ジメチルスルホキシド

(): 平均値 \pm 標準偏差

-- : 試験せず

* : 菌の生育阻害が認められた。

: プレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

2-AA: 2-アミノアントラセン

表 3-2-2 S9 mix 存在下における1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験2回目－代謝活性化法〕

用 量 〔 μ g/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート	
	塩基対置換型	フレームシフト型
	TA1535	TA98
陰性対照 〔DMSO〕	11	29
	11	41
	15	34
	(12 \pm 2)	(35 \pm 6)
6.25	8	29
	8	32
	8	39
	(8 \pm 0)	(33 \pm 5)
12.5	7	34
	11	33
	12	35
	(10 \pm 3)	(34 \pm 1)
25	8	38
	4	31
	10	22
	(7 \pm 3)	(30 \pm 8)
50	6	36
	7	26
	10	28
	(8 \pm 2)	(30 \pm 5)
100	6	38
	7	22
	14	24
	(9 \pm 4)	(28 \pm 9)
200 #	6 *	21 *
	5 *	22 *
	6 *	27 *
	(6 \pm 1)	(23 \pm 3)
陽性対照	2-AA	2-AA
μ g/プレート	2	1
復帰変異	149	239
コロニー数	154	258
/プレート	131	273
	(145 \pm 12)	(257 \pm 17)

DMSO: ジメチルスルホキシド

(): 平均値 \pm 標準偏差

* : 菌の生育阻害が認められた。

: プレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

2-AA: 2-アミノアントラセン

表 3-2-3 S9 mix 存在下における1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験2回目－代謝活性化法〕

用 量 〔 μ g/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート
	塩基対置換型 WP2 $uvrA$
陰性対照 〔DMSO〕	28
	18
	14
	(20 \pm 7)
156	20
	22
	17
	(20 \pm 3)
313 #	17
	12
	20
	(16 \pm 4)
625 #	25
	12
	18
	(18 \pm 7)
1250 #	17
	23
	18
	(19 \pm 3)
2500 #	20
	21
	19
	(20 \pm 1)
5000 #	24
	17
	13
	(18 \pm 6)
陽性対照	2-AA
μ g/プレート	10
復帰変異	601
コロニー数	653
/プレート	683
	(646 \pm 41)

DMSO: ジメチルスルホキシド

(): 平均値 \pm 標準偏差

: プレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

2-AA: 2-アミノアントラセン

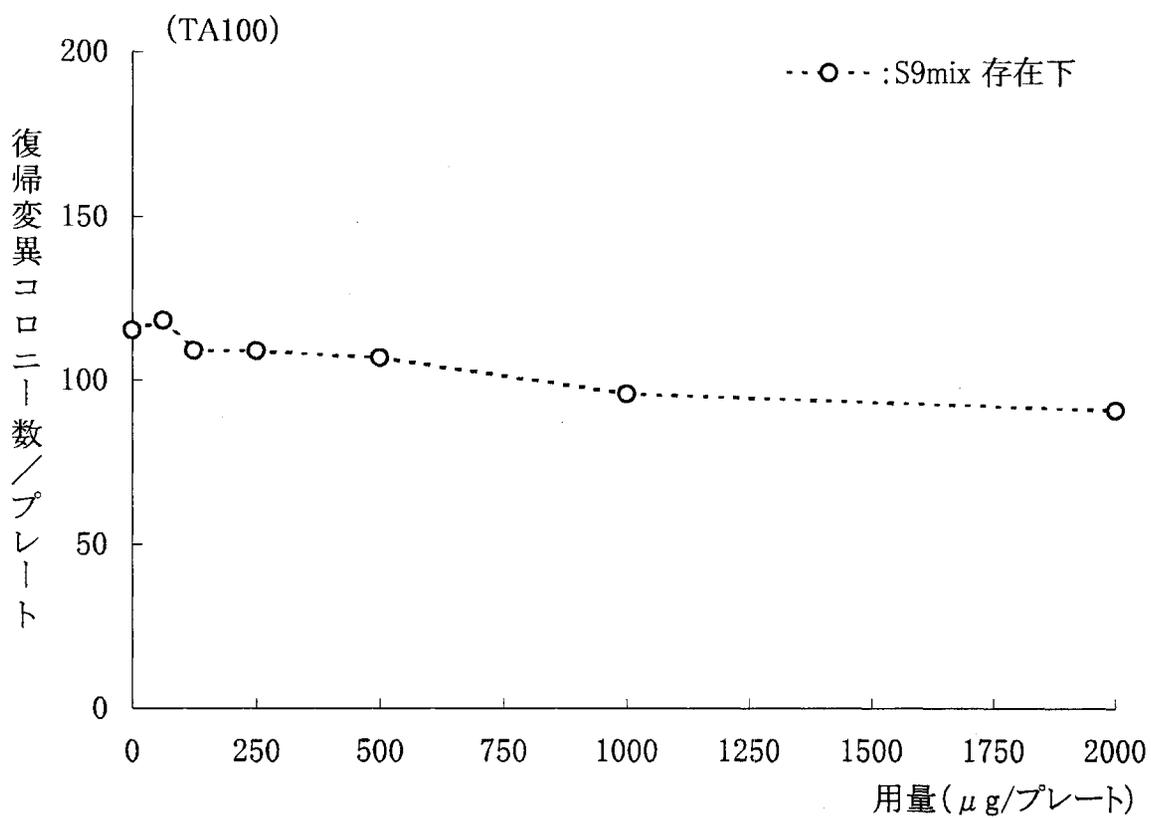
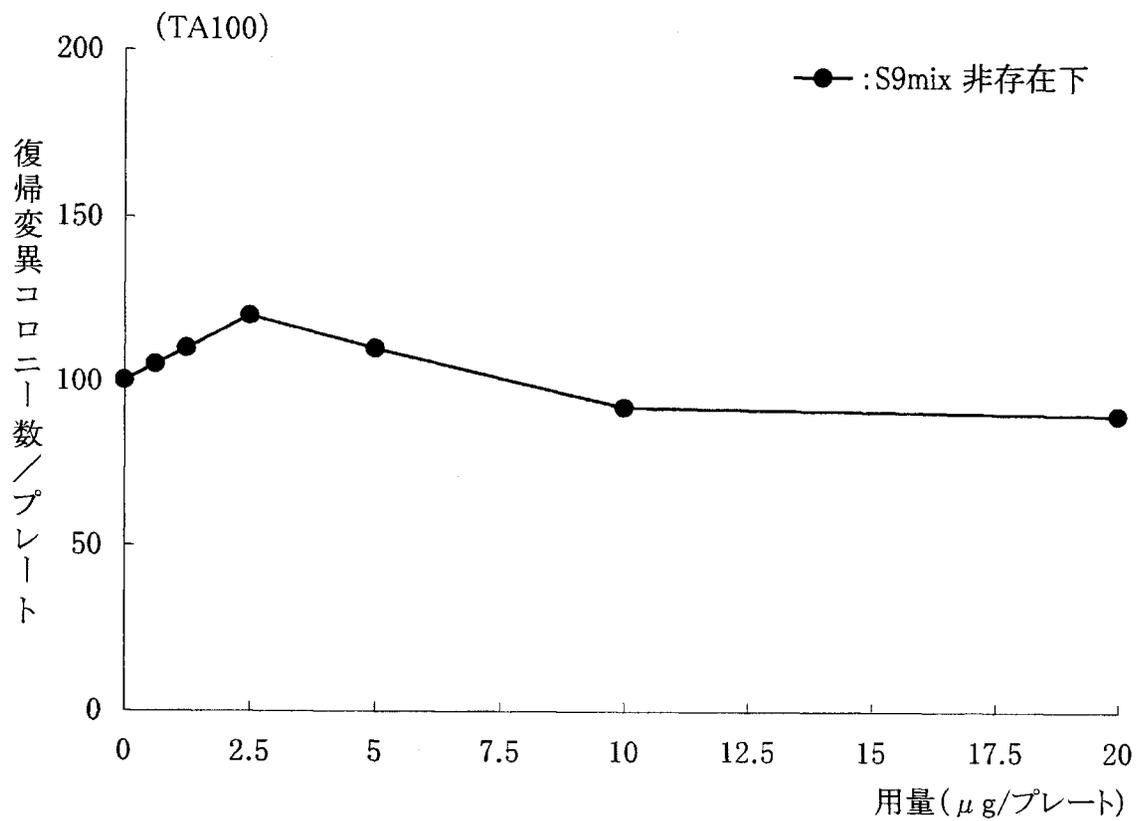


図 1-1 1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果—本試験1回目

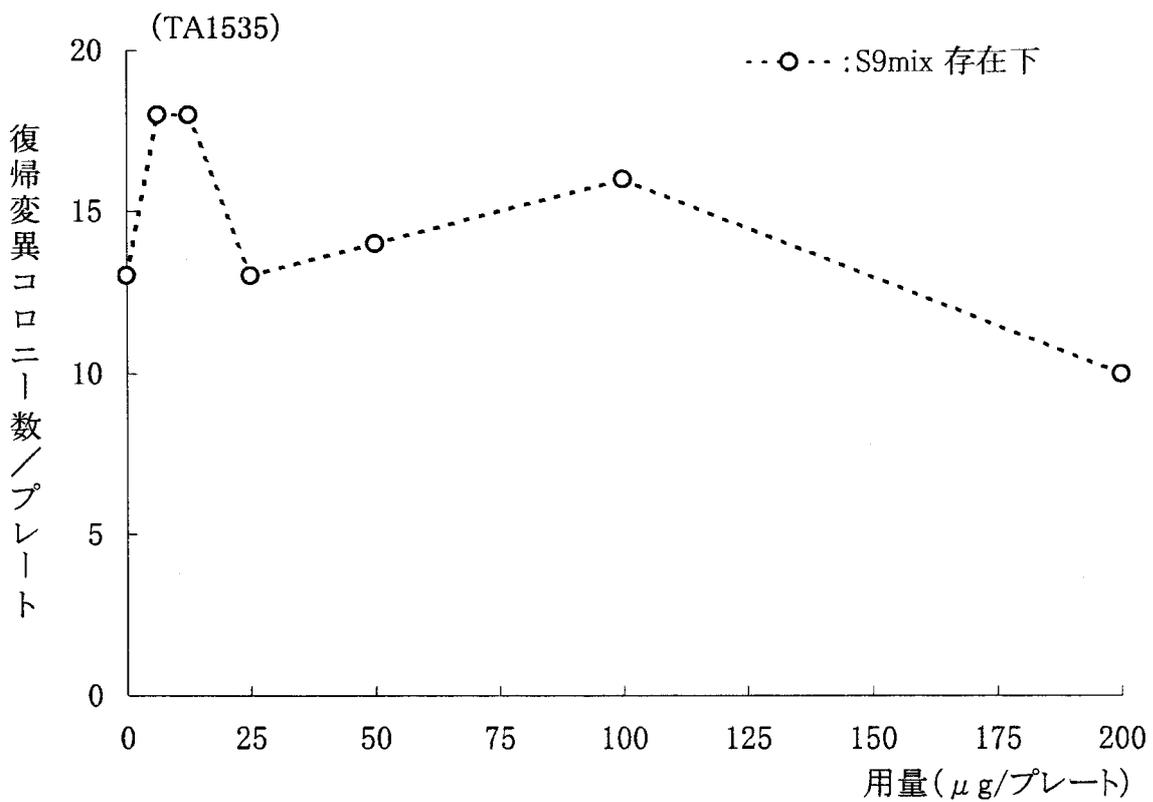
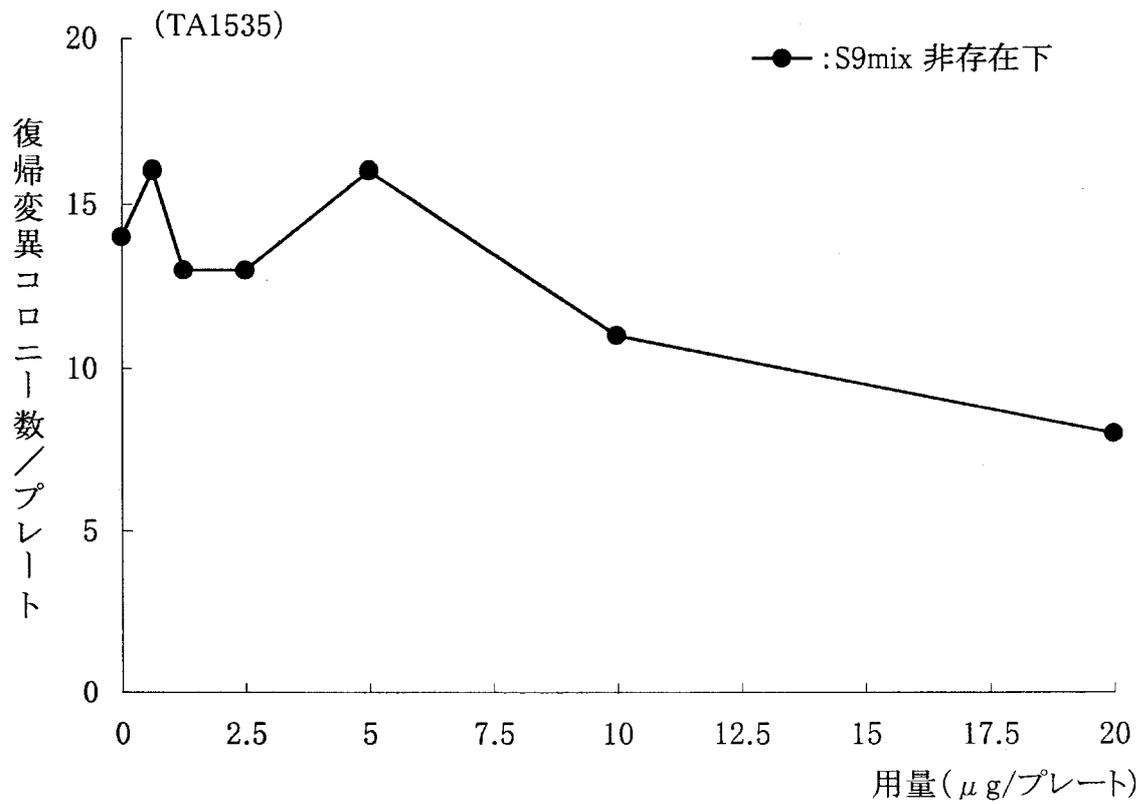


図 1-2 1-メキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果一本試験1回目

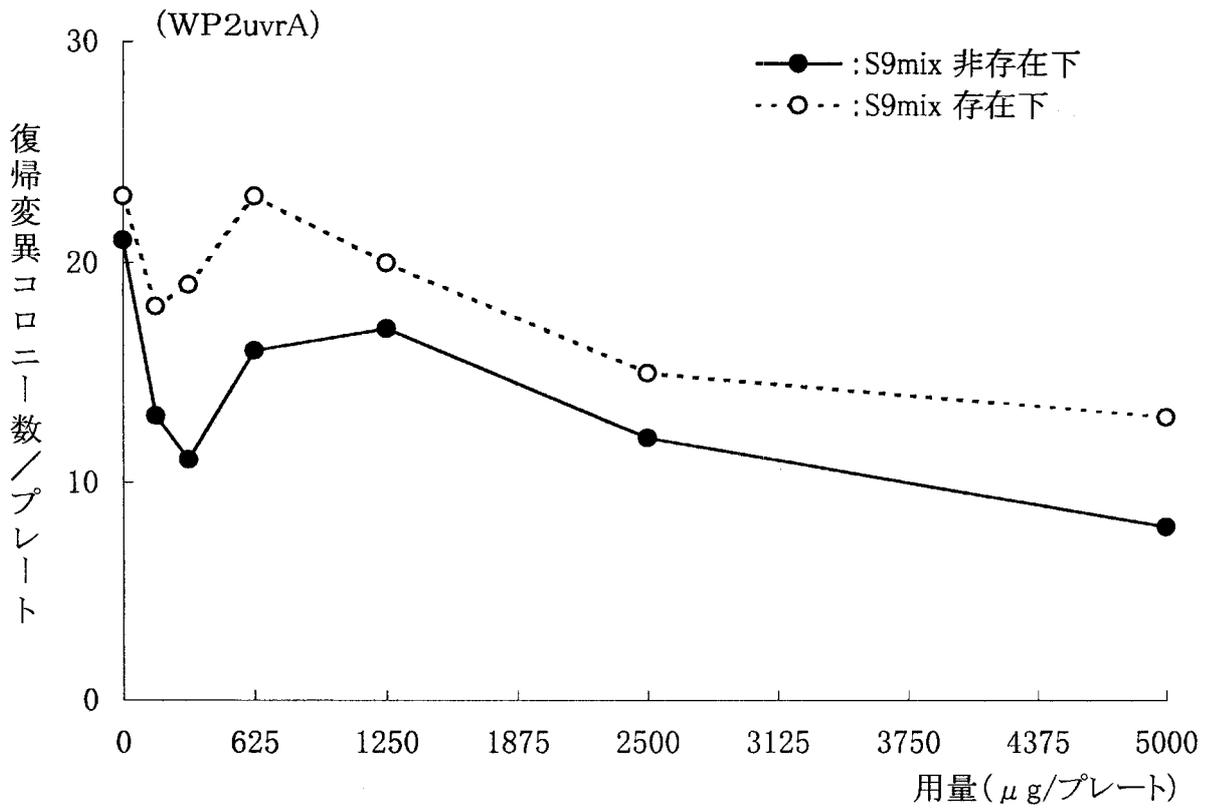


図 1-3 1-メキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果一本試験1回目

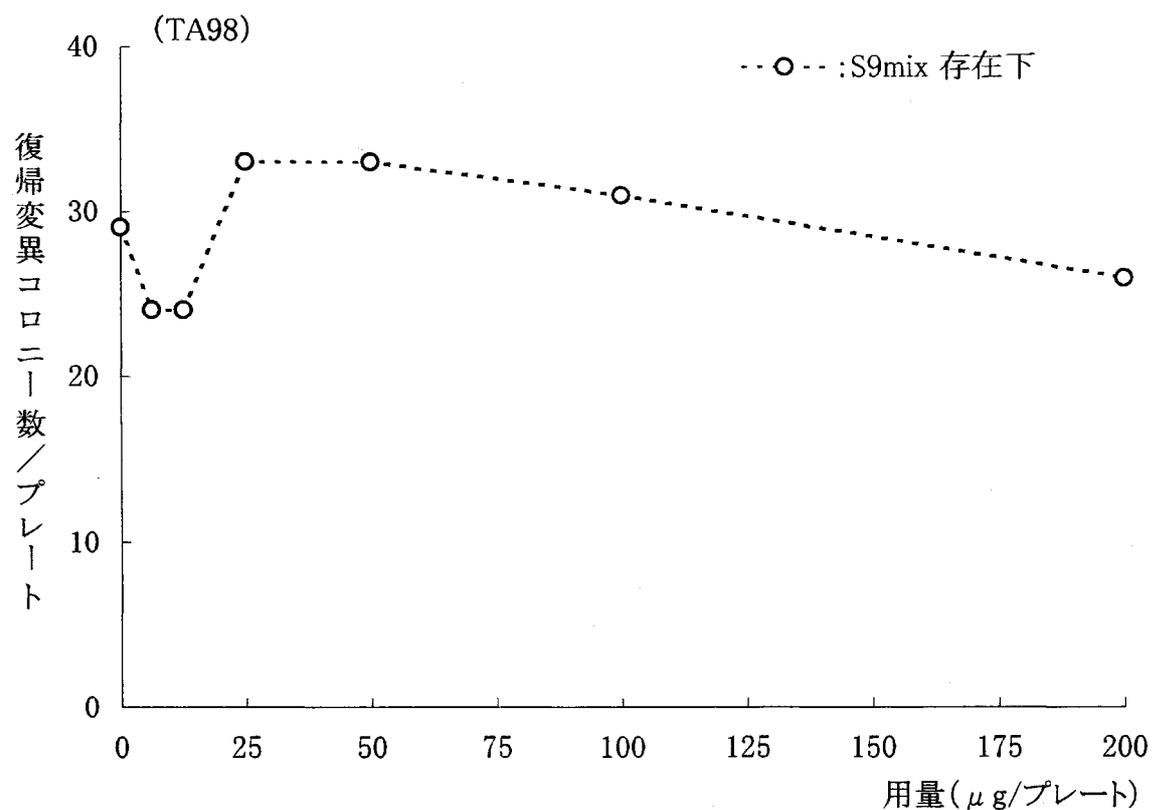
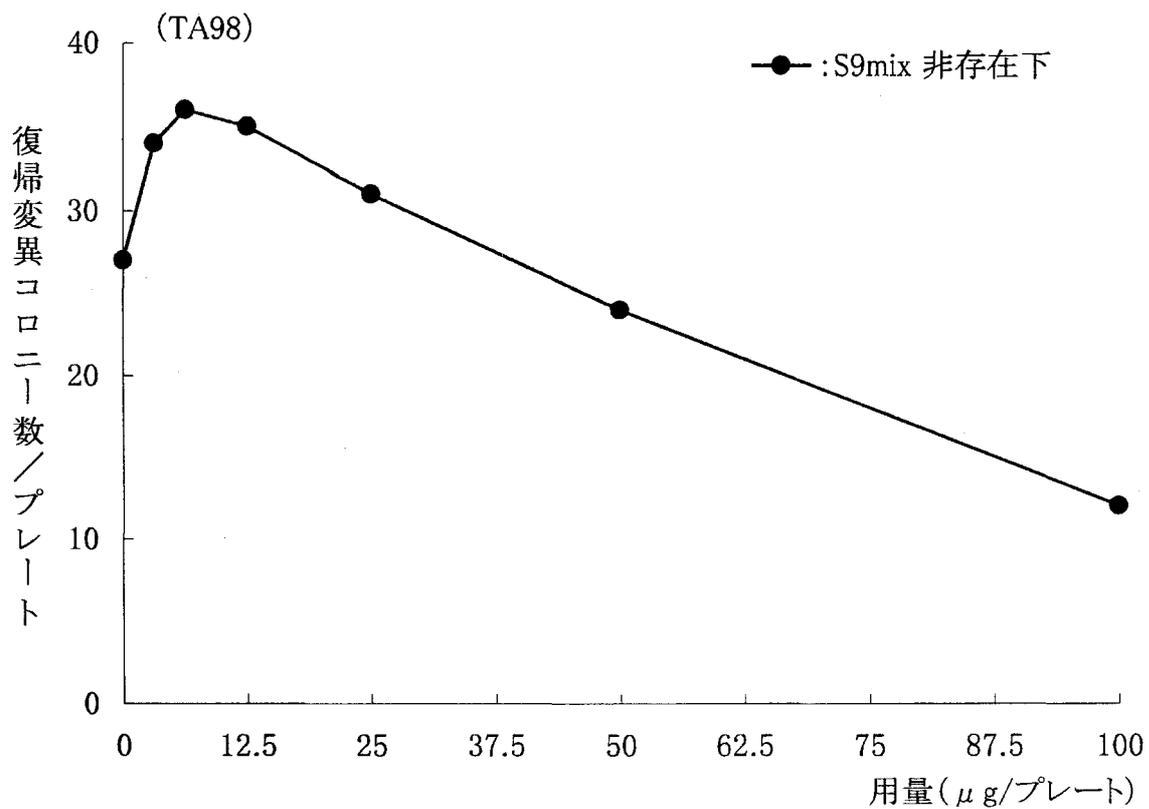


図 1-4 1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果—本試験1回目

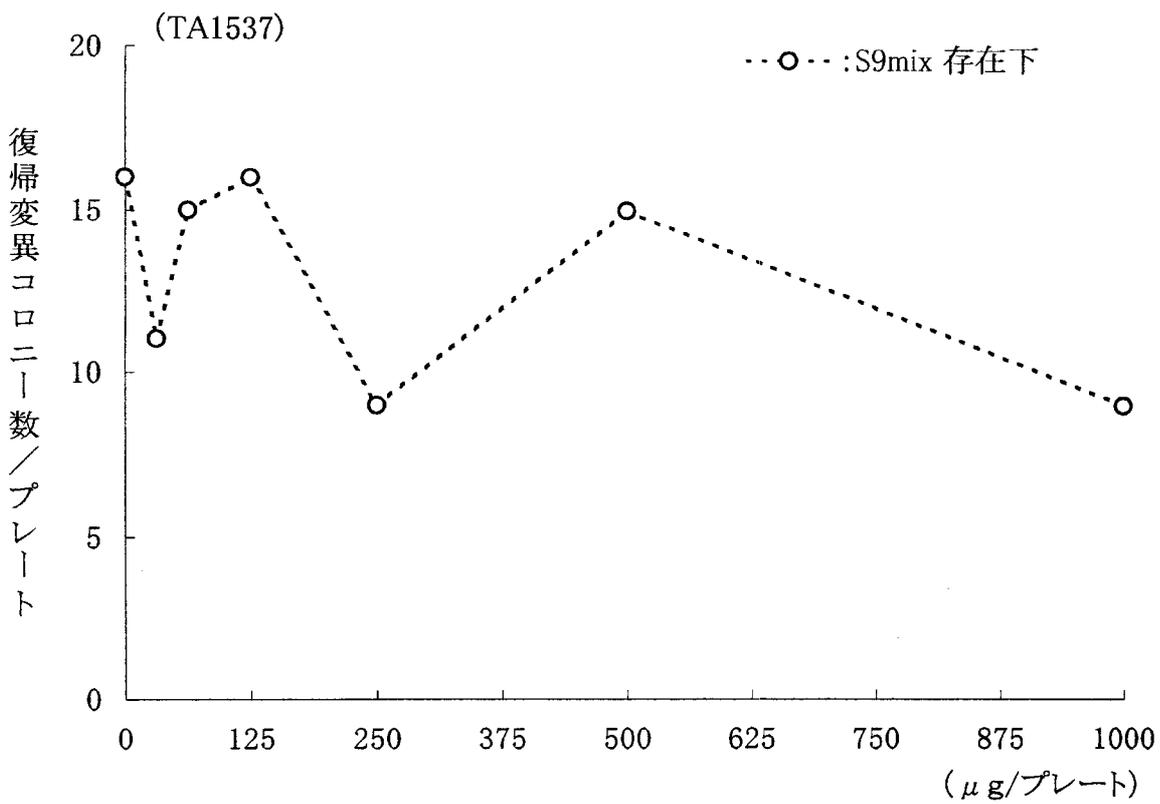
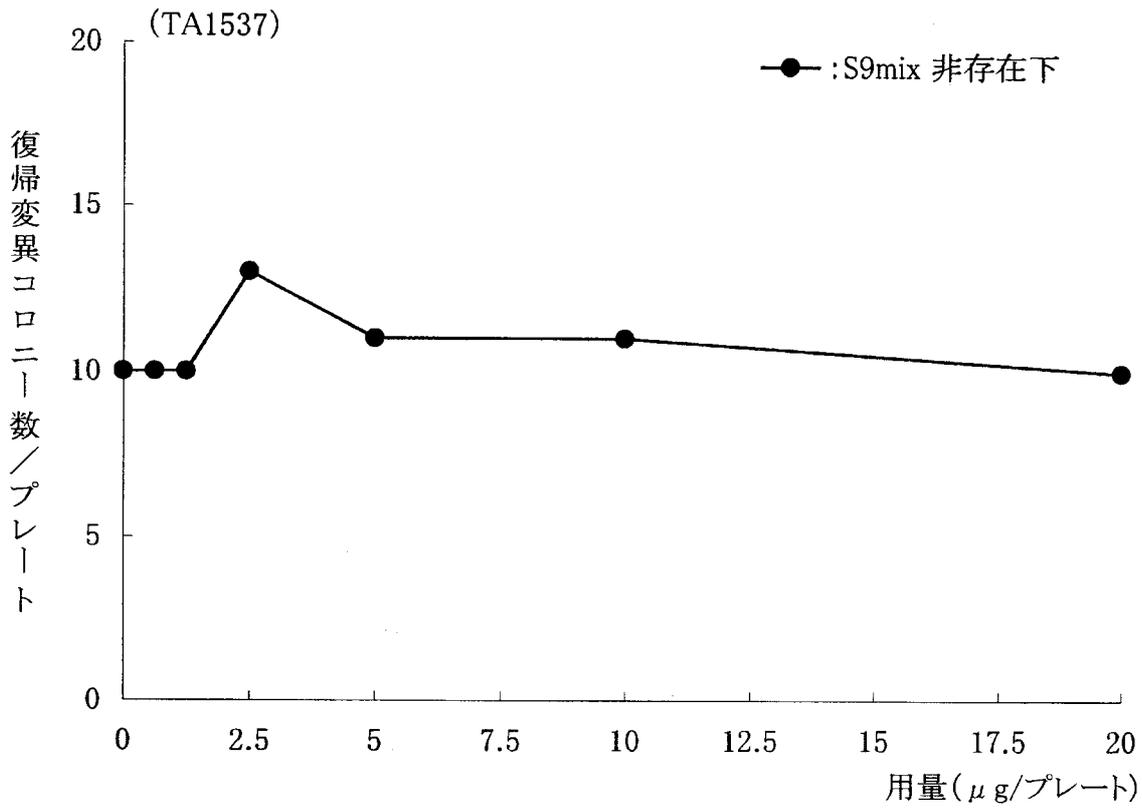


図 1-5 1-メキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果—本試験1回目

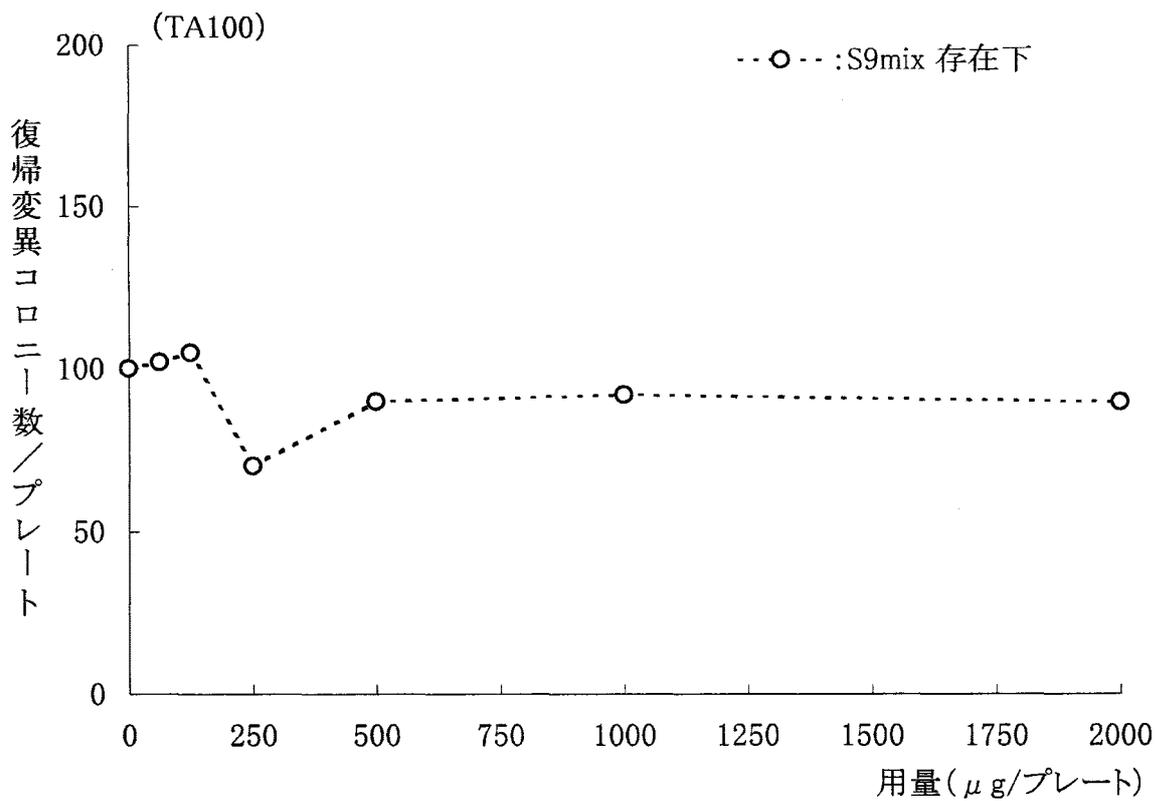
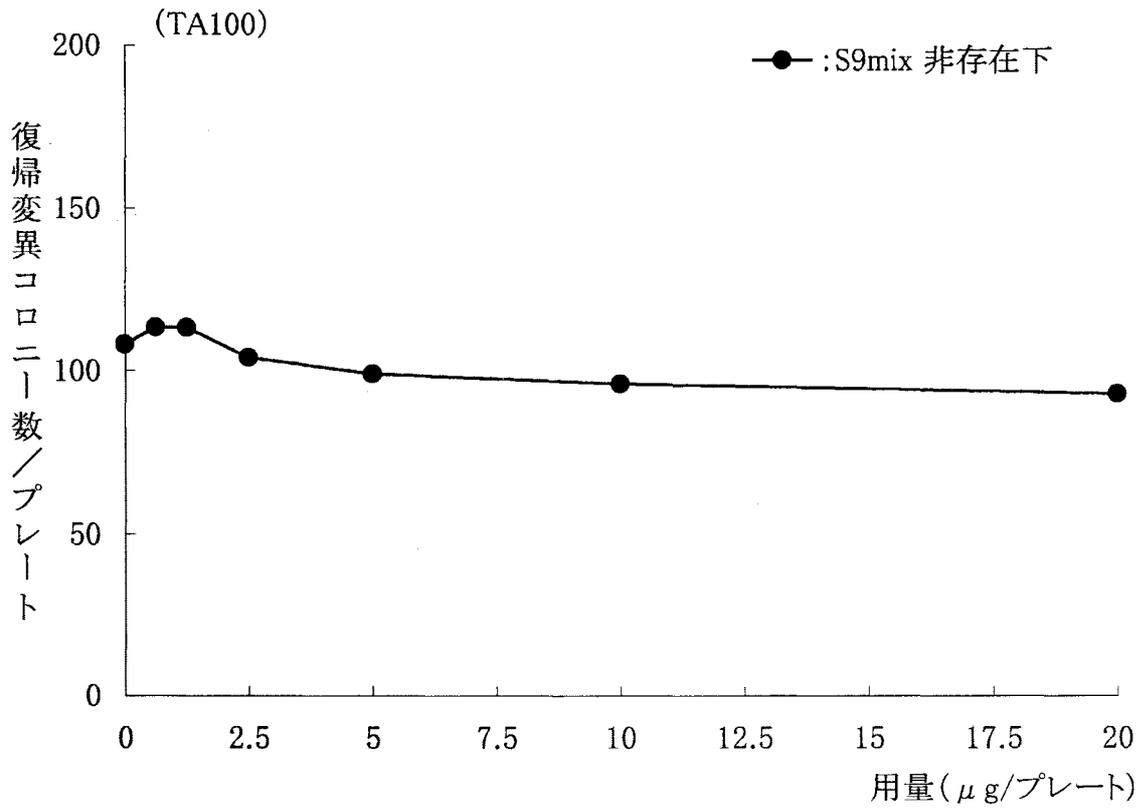


図 2-1 1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果—本試験2回目

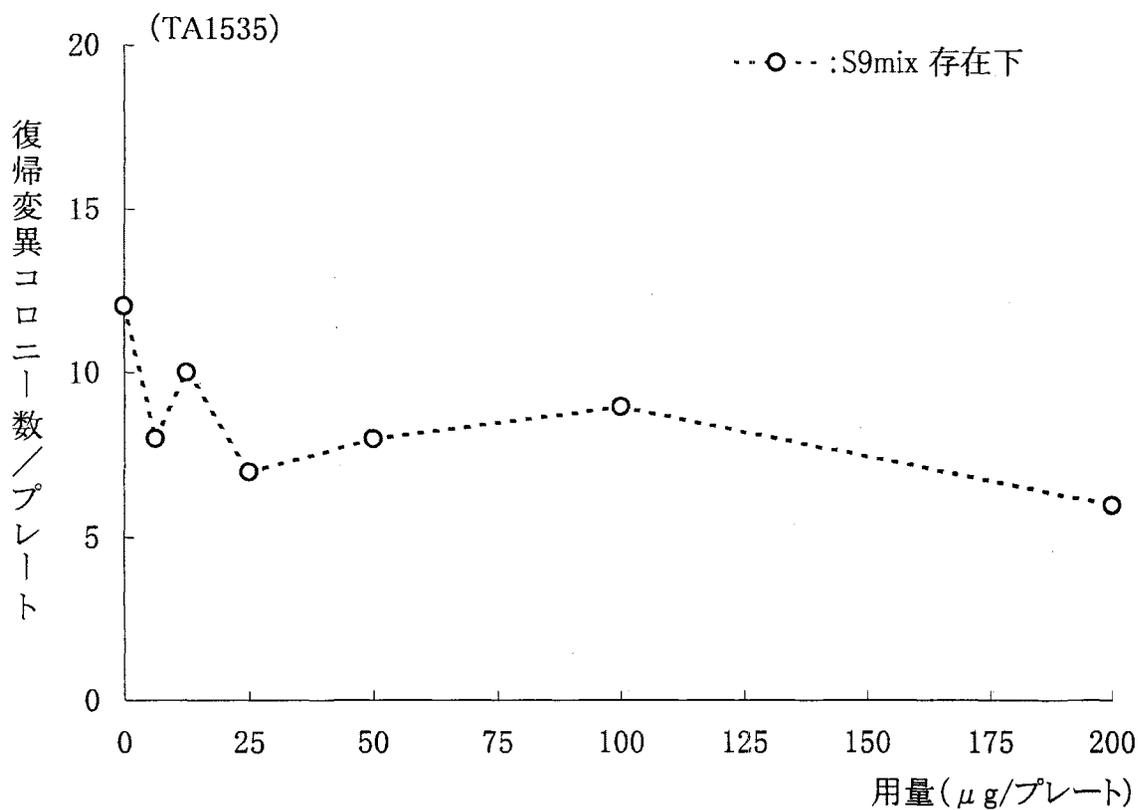
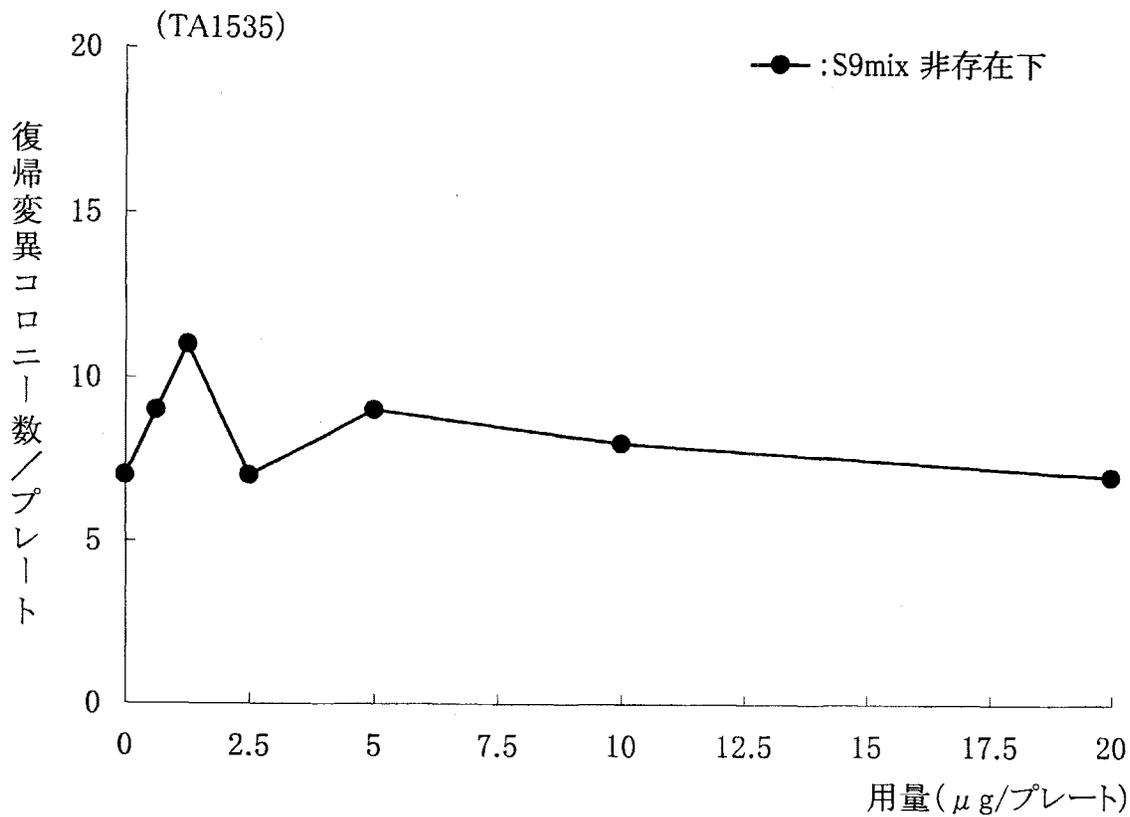


図 2-2 1-メキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果一本試験2回目

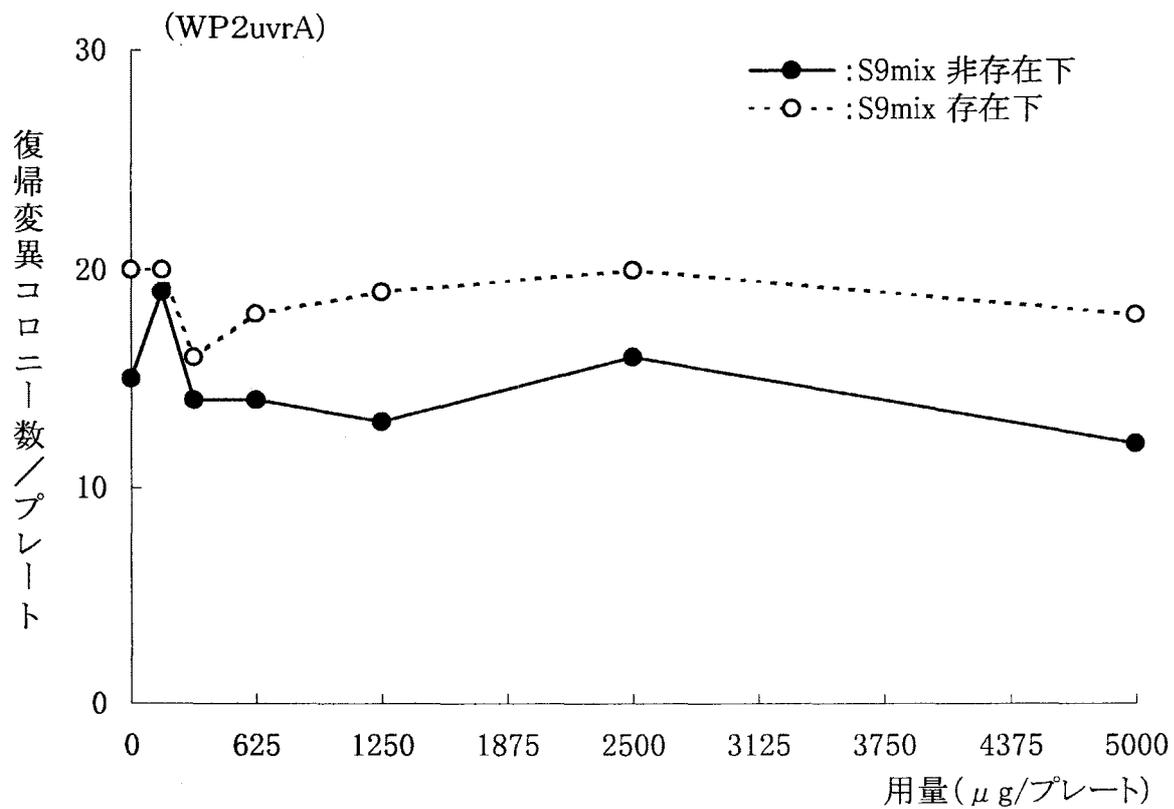


図 2-3 1-メキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果一本試験2回目

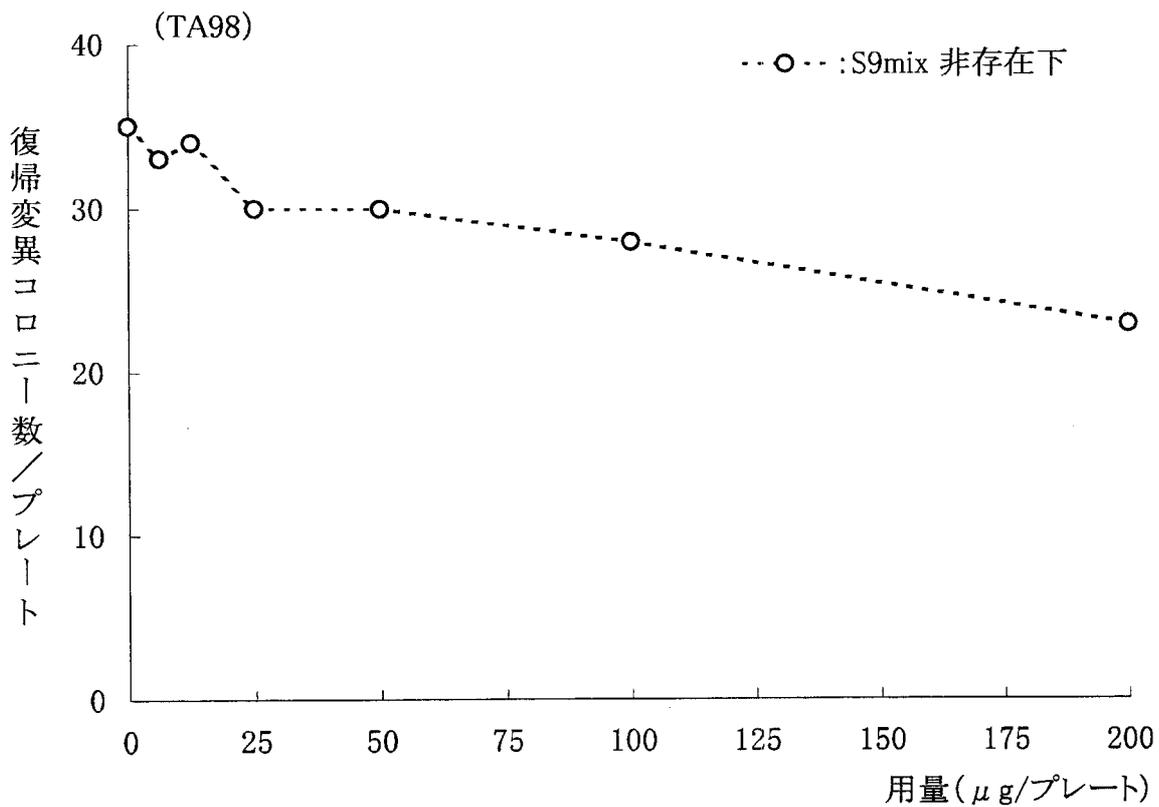
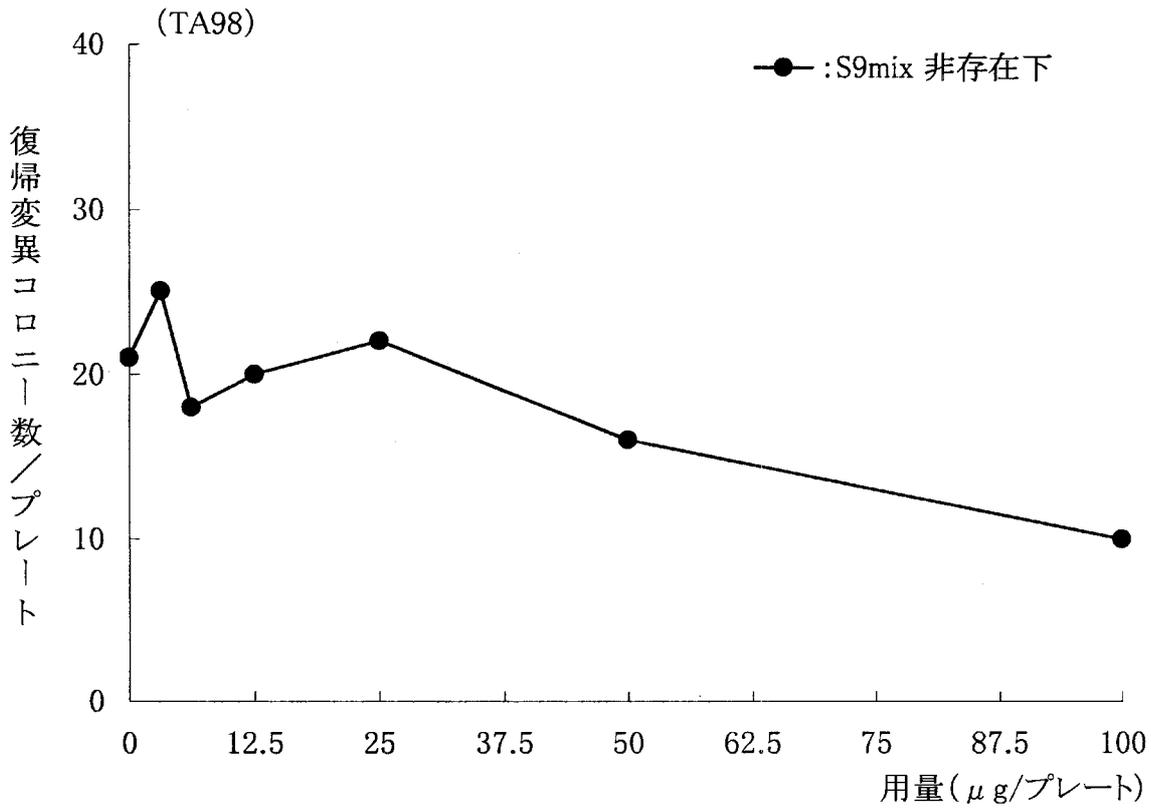


図 2-4 1-メトキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果一本試験2回目

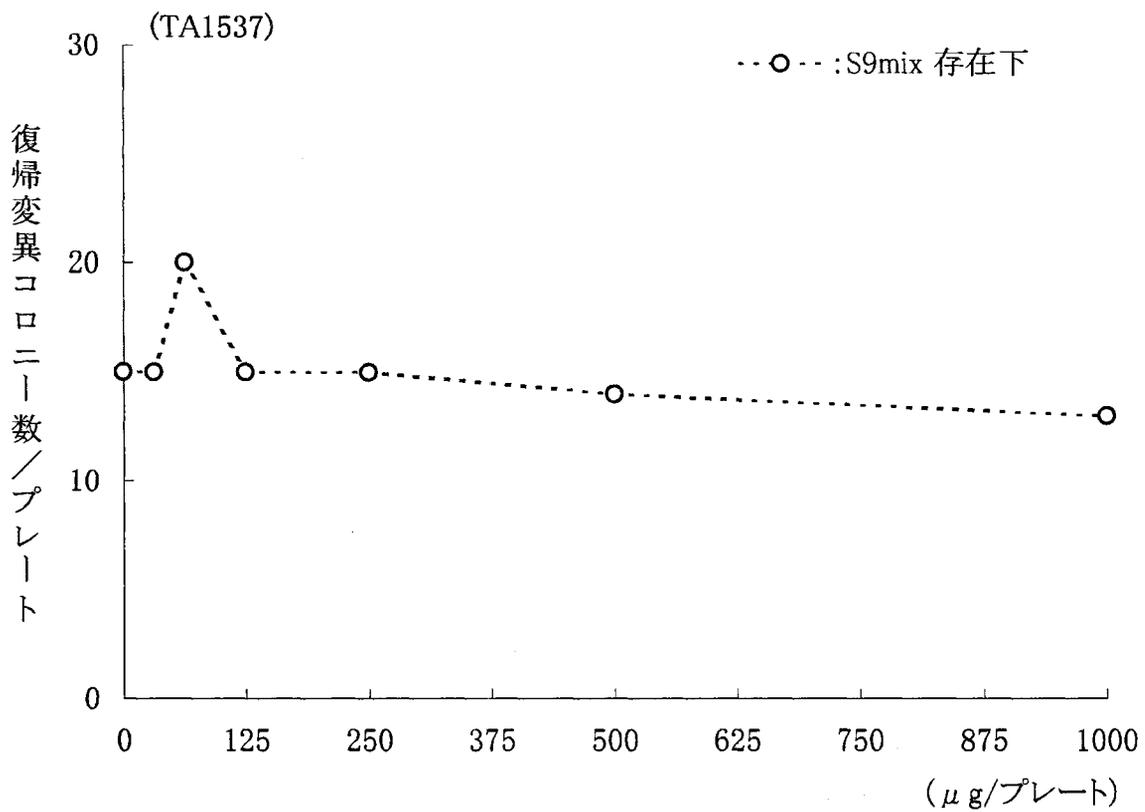
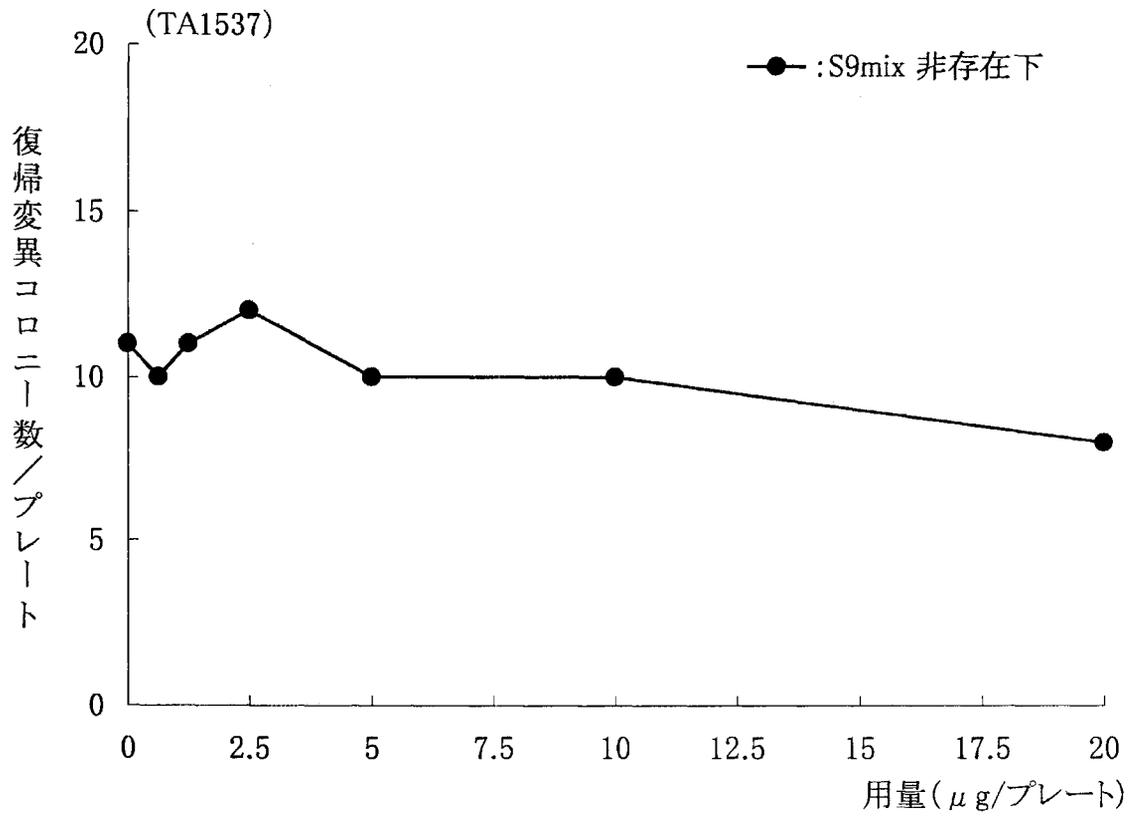


図 2-5 1-メキシカルボニルペンタデカンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果一本試験2回目